昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*，June 2007，50(6)：644 - 648 ISSN 0454-6296

条背萤幼虫不同发育阶段呼吸系统构造的观察和比较

郑霞林，张　应，付新华，雷朝亮*

（华中农业大学植物科学技术学院，昆虫资源研究所，武汉　430070）

摘要：通过显微解剖，结合透射电镜和扫描电镜，观察比较了条背萤 *Luciola substriata* 幼虫两个不同发育阶段呼吸系统的差异。结果表明：1～2 龄幼虫的呼吸系统中只有气管无气囊，3～6 龄幼虫的呼吸系统中气管和气囊并存。1～2 龄幼虫的尾气门和 3～6 龄幼虫的腹部侧气门及尾气门结构没有差异。透射电镜观察提示条背萤 1～2 龄幼虫体壁上的毛状物为气管鳃。

关键词：条背萤；幼虫；呼吸系统；气管；气管鳃；气囊

中图分类号：Q964　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2007)06-0644-05

Observation and comparison of the structure of respiratory system during different instars of *Luciola substriata* (Coleoptera：Lampyridae) larva

ZHENG Xia-Lin，ZHANG Ying，FU Xin-Hua，LEI Chao-Liang* (Institute of Insect Resources Research，College of Plant Science and Technology，Huazhong Agricultural University，Wuhan 430070，China)

Abstract：The structure of respiratory system during the 1st - 2nd instars and the 3rd - 6th instars of *Luciola substriata* larva was observed using micro-dissection，transmission electron microscope (TEM) and scanning electron microscope (SEM). The results indicated that the 1st - 2nd instar larva had trachea without air sacs，while the 3rd - 6th instar larva had trachea and air sacs in the respiratory system. The structure of the posterior spiracles of the 1st - 2nd instar larva was the same as that of the 3rd - 6th instar larva. Observations by TEM suggest that the hairs on the culticle are tracheal gills.

Key words：*Luciola substriata*；larva；respiratory system；trachea；tracheal gills；air sacs

萤火虫属鞘翅目（Coleoptera），萤科（Lampyridae）。全世界已记录萤火虫达 8 个亚科 90 多个属 2 000 多种，主要分布于温带、亚热带和热带地区，以陆栖种类为主（Mcdermott，1966）。现有研究主要集中于欧洲、北美以及亚洲部分种类的生物发光原理（Robert，1998）、闪光交流系统（Ohba，1983，2004）、性别选择机制（Vencl and Carlson，1998；Vencl，2004）和化学防卫行为（Eisner *et al*.，1997；Gonzálea *et al*.，2002；Fu *et al*.，2006；Gronquist *et al*.，2006）等方面。

目前，已记录幼虫阶段水栖的萤火虫种类仅有 7 种（付新华，2005），对其研究的报道均未涉及呼吸系统的观察比较方面。条背萤 *Luciola substriata*（Gorham）属花萤总科（Cantharoidea），萤科（Lampyridae），*Luciola* 属，其生物学、形态学和游泳行为已有详细研究（付新华等，2004，2005；Fu *et al*.，2005）。研究中发现条背萤 1～2 龄和 3～6 龄幼虫的形态和生物学特性存在较大的差异，1～2 龄幼虫体壁两侧着生有毛状物，以往的研究推测其可能是气管鳃（付新华等，2005），但无相关的证据。本研究通过显微解剖，结合扫描电镜和透射电镜，较系统地观察比较了条背萤幼虫两个不同发育阶段的呼吸系统，主要目的是为了弄清两者呼吸系统构造的差别及是否具有气管鳃，为进一步研究呼吸行为，探讨其呼吸系统的进化以及对环境的适应性奠定基础。结果报道如下。

1　材料和方法

1.1　供试虫源和仪器设备

1～2 龄幼虫：2006 年 7 - 9 月，在武汉市汤逊湖

基金项目：湖北省血防科技攻关项目（XF06C22）

作者简介：郑霞林，男，1984 年生，湖北英山人，硕士研究生，E-mail：zheng-xia-lin@163.com

$*$ 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：ioir@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received：2007-01-16；接受日期 Accepted：2007-04-12

边采集条背萤雌雄成虫，将成虫置于水深 8 cm，水面覆盖薄薄一层紫萍的加盖塑料盒中（29 cm × 20 cm × 23 cm），交配后的雌虫落在紫萍上并产卵于紫萍背面，挑出产有卵块的紫萍置于水温（22 ± 1）℃的水中孵化，幼虫孵化后以扁卷螺或凸旋螺为食物饲养备用。

3～6 龄幼虫：2006 年 7－9 月，在武汉市汤逊湖中采集条背萤 3～6 龄幼虫。

仪器设备：解剖针、蜡盘（自制）、解剖剪、手术刀、镊子（苏州六六视觉科技股份有限公司）、Nikon Fx-35 解剖镜（上海千欣仪器有限公司）、日立 5-520 型扫描电镜（日本日立公司）、FE1 Tecnai $G^2$12 型透射电镜（荷兰飞利浦公司）。

1.2　方法

1.2.1　解剖观察　将条背萤 1～2 龄及 3～6 龄幼虫放置盛水的蜡盘中，利用解剖剪、手术刀进行解剖，使用 Nikon Fx-35 型解剖镜（目镜中带有标尺）观察并采用九宫法绘图。采用目测法记录各级气管数目，使用目镜中的标尺测量各气管直径。

1.2.2　扫描电镜样品的制备及观察　将条背萤 1～2 龄幼虫及 3～6 龄幼虫整体用 30 mL 2.5% 的戊二醛溶液固定数小时，pH 7.2 缓冲液冲洗 3 次，锇酸固定，乙醇梯度脱水，临界点干燥法干燥，镀金，粘台，然后在日立 5-520 型扫描电镜下观察并拍摄体壁两侧的毛状物及气门。

1.2.3　透射电镜样品的制备及观察　将条背萤 1～2 龄幼虫体壁两侧的毛状物用 20 mL 2.5% 戊二醛溶液固定数小时，缓冲液冲洗 3 次，锇酸固定数小时后，乙醇梯度脱水，包埋、切片、染色，在 FE1 Tecnai $G^2$12 型透射电镜下观察并拍摄照片。

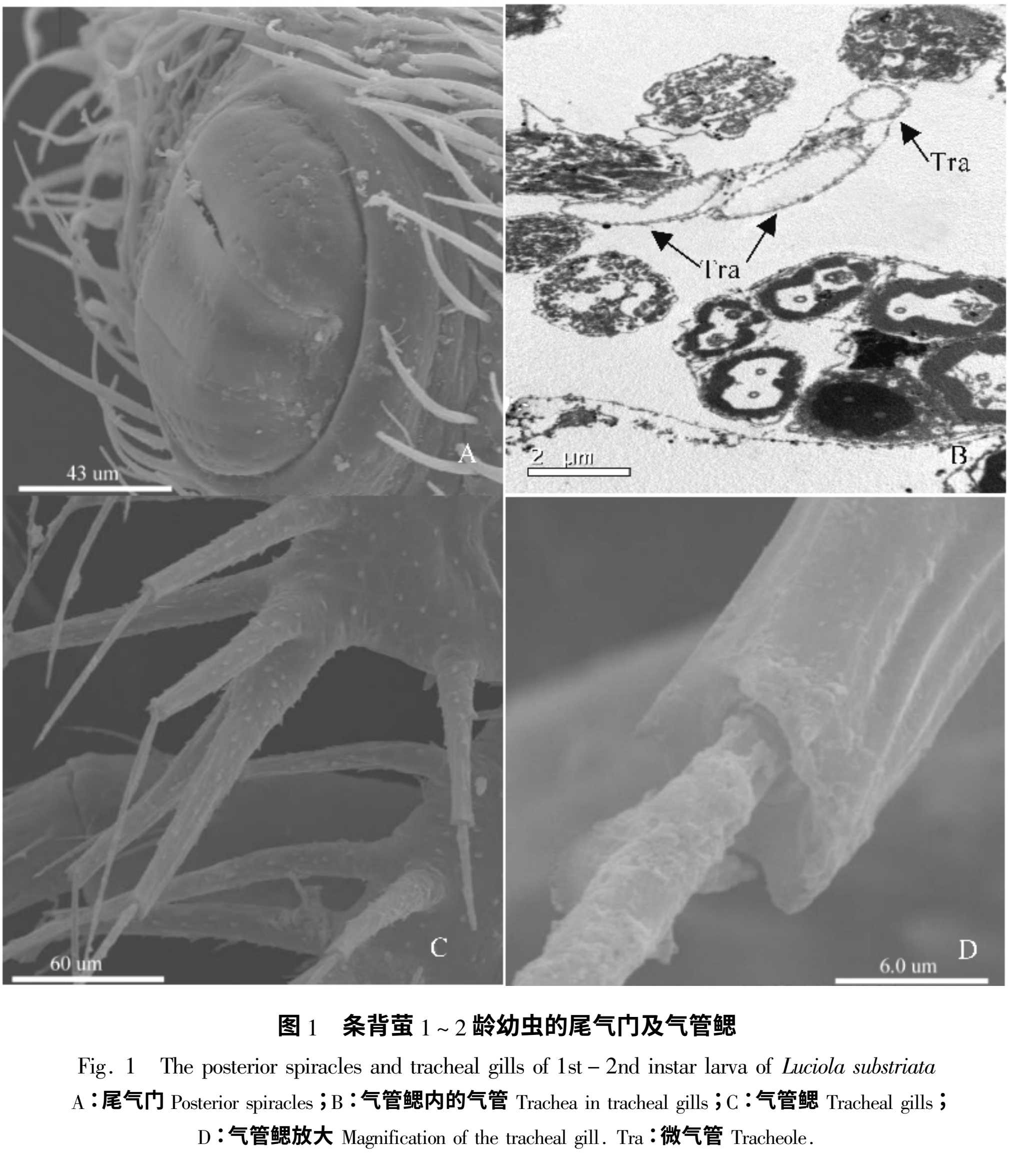

图 1　条背萤 1～2 龄幼虫的尾气门及气管鳃

Fig. 1　The posterior spiracles and tracheal gills of 1st – 2nd instar larva of *Luciola substriata*

A：尾气门 Posterior spiracles；B：气管鳃内的气管 Trachea in tracheal gills；C：气管鳃 Tracheal gills；D：气管鳃放大 Magnification of the tracheal gill. Tra：微气管 Tracheole.

2 结果

2.1 1～2龄幼虫气管系统的观察

2.1.1 气门分布及气门的构造：显微解剖发现条背萤1～2龄幼虫仅腹部第8节末端分布有1对尾气门，属寡气门型（oligopneustic），后气门式（metapneustic respiratory system）。胸部1～3节及腹部1～7节无气门，具气管鳃。气门属外闭式气门（external closing apparatus），构造简单，周围无疏水性毛状物（图1：A）。

2.1.2 气管鳃的分布及结构：透射电镜观察提示条背萤1～2龄幼虫体壁两侧的毛状物为气管鳃，其内分布有3个微气管分支，两大一小，呈钝角三角形排列（图1：B）。幼虫该结构有230～300个，主要分布于胸、腹部各体节两侧的后缘，体节之间分布较少。胸部每节两侧各分布13～16个，腹部每节两侧各分布9～12个。该结构可以2个（或2个以上）聚在一起呈簇状，也可单个，均在体壁两侧呈不规则状排列（图1：C），该结构长0.5～3.2 mm，分为2节，基节较粗，端节较细（图1：D）。

2.1.3 气管分布：条背萤1～2龄幼虫体内的主气管分布于体内两侧，气管的最前端位于前胸两侧后缘的气管鳃处，它的二级气管延伸至头部，二级气管分出三级气管及微气管与头部的复眼、口器、触角等器官相连。气管的最末端位于腹部第8节，气管开口直接与尾气门相连。位于体内两侧的侧纵干气管在胸部1～3节及腹部1～7节的每节都分出二级气管至体侧气管鳃基部，二级气管又分出三级气管和微气管与气管鳃相连。同时两侧的侧纵干气管上还分出与另一侧侧纵干气管相连的气管，形成腹气管连锁（ventral trachea commissura），同时还分出与腹神经索相连的二、三级气管及微气管。腹部第8节无气管鳃，只有腹气管连锁的气管，腹部第8节的气管整体似倒“U”字形（图2：A）。

2.2 3～6龄幼虫气管系统的观察

2.2.1 气门分布及气门的构造：显微解剖发现条背萤3～6龄幼虫有10对气门，属多气门型（polypneustic），全气门式（holopneustic respiratory system）。第1对气门着生于中胸两侧的前下方，最后1对气门位于腹部第8节（图3：A），同1～2龄幼虫相似都属尾气门；第2对气门着生于后胸体侧的前下方，而腹部1～7节气门则着生于体侧正中下方。条背萤3～6龄幼虫每对气门都与体内的气管系统相连，属有效气门。气门为外闭式气门（external closing apparatus），整个气门稍向外凸起，气门周围无疏水性毛状物（图3：B）。

2.2.2 气管分布：显微解剖观察发现条背萤3～6龄幼虫与1～2龄幼虫体内气管系统有很大的不同。3～6龄幼虫的气囊分布于体内两侧，气囊的最前端位于中胸前侧并与中胸气门气管相连，相连之处又分出二、三级气管及微气管与头部的口器、触角、复眼等器官相连。气囊的最末端位于腹部第8节，直接与尾气门相连。中、后胸内两侧都分布有气囊且气囊均与中、后胸气门气管相连。腹部第1～7节两侧各分布有气囊，同时两侧还各有1条气管与气囊平行贯穿于腹部1～7节，气管的最前端位于腹部第1节，最末端位于腹部第8节并与气囊相连通。腹部第1节的气囊和气管均与该节的气门气管相连，相连之处呈“Y”字形。腹部余下6节气囊、气管的连接均如此相同。腹部第8节的气门位于腹部最末端，两侧气囊均与两个尾气门直接相连。从中、后胸至腹部第8节，两侧均有气管分支和微气管与腹神经索及肌肉相连（图2：B）。

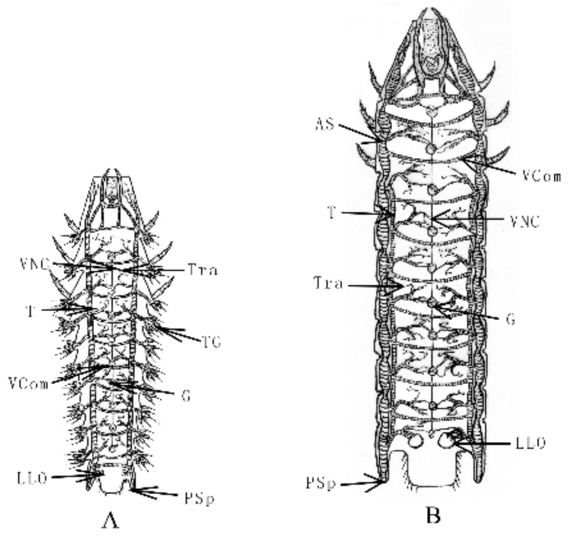

图2 条背萤1～2龄幼虫（A）与3～6龄幼虫（B）的呼吸系统

Fig. 2 The respiratory systems during the 1st – 2nd nstar (A) and 3rd – 6th instar (B) larva of *Luciola substriata*

TG：气管鳃 Tracheal gill；AS：气囊 Air sac；Vcom：腹气管连锁 Ventral tracheal commissura；T：气管 Trachea；VNC：腹神经索 Ventral nerve cord；G：神经节 Ganglion；Tra：微气管 Tracheole；LLO：幼虫发光器 Larval light organ；PSp：尾气门 Posterior spiracle.

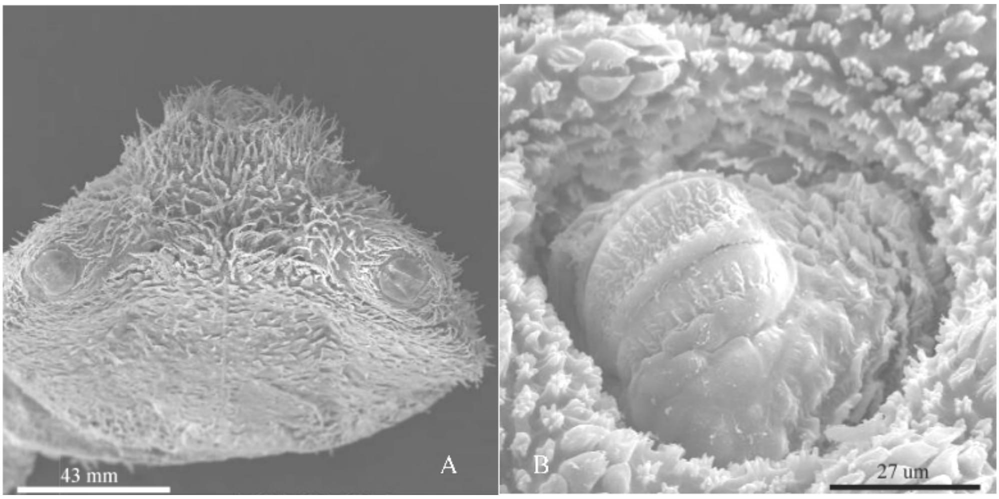

图 3　条背萤 3～6 龄幼虫尾气门(A)及腹侧气门(B)

Fig. 3　The posterior spiracles (A) and the spiracle along the sides of abdomen (B) of the 3rd－6th instar larva of *Luciola substriata*

2.3　1～2 龄和 3～6 龄幼虫呼吸系统的比较

显微观察和测量结果表明，条背萤 1～2 龄和 3～6 龄幼虫一、二、三级气管的数目和直径有很大的不同。1～2 龄幼虫无气囊仅有 2 条一级气管，3～6 龄幼虫有 2 条气囊且有 2 条一级气管。1～2 龄幼虫的二级气管数目少于 3～6 龄幼虫，但 1～2 龄幼虫的三级气管多于 3～6 龄幼虫。且 1～2 龄幼虫的一、二、三级气管的直径均小于 3～6 龄幼虫(表 1)。

表 1　条背萤 1～2 龄和 3～6 龄幼虫呼吸系统的比较

Table 1　Comparison of the respiratory systems of the 1st－2nd instar and the 3rd－6th instar larva of *Luciola substriata*

龄期 Instars	观察个体数 Number of individuals	气囊 Air sac		一级气管 Primary trachea		二级气管 Secondary trachea		三级气管 Tertiary trachea	
		气管数 Number of branches	直径 Diameter (μm)	气管数 Number of branches	直径 Diameter (μm)	气管数 Number of branches	直径 Diameter (μm)	气管数 Number of branches	直径 Diameter (μm)
1～2 龄 1st－2nd instar	30	－	－	2	170 ± 17	22－28	68 ± 11	98－110	42 ± 7
3～6 龄 3rd－6th instar	30	2	879 ± 39	2	305 ± 25	38－42	165 ± 18	84－90	82 ± 18

“ － ’表示没有。“ － ”signifies absent.

3　讨论

本文研究了条背萤幼虫两个不同发育阶段呼吸系统的结构差异，结果表明两种不同发育阶段的幼虫虽然都生活在水中，但呼吸系统构造完全不同。1～2 龄幼虫体内气管与腹部第 8 节的 2 个尾气门相连通，无腹部侧气门，体内只有气管无气囊。透射电镜观察提示 1～2 龄幼虫体壁两侧的毛状物为气管鳃。从表 1 中可以看出，虽然 1～2 龄幼虫的二级气管数目比 3～6 龄少，但 1～2 龄幼虫的三级气管要比 3～6 龄幼虫多，这可能是因为 1～2 龄幼虫需要更多的气管分支与可能为气管鳃的结构相连。以往的研究认为条背萤 1～2 龄幼虫体壁两侧可能为气管鳃的结构为 3 节(付新华，2005)，本研究通过扫描电镜观察发现，该结构为 2 节，并不是 3 节。条背萤 3～6 龄幼虫体内气管分别与中、后胸及腹部 1～8 节气门相连通，体内气管和气囊并存。

条背萤幼虫两个不同发育阶段的活动方式不一样(付新华，2005)，因而也导致其呼吸方式有很大的差异。初龄幼虫主要生活在水底，偶尔游至水面，因而体壁上布满了可能为气管鳃的结构，在水底生活时就通过该结构呼吸，因为该结构有助于它们在水中生存(Okada，1928；Raj，1952)。1～2 龄幼虫腹部第 8 节具有 2 个尾气门，其作用可能是当水中含 O_2 量较少时游至水面进行气体交换。而 3～6 龄幼虫主要生活在水面，很少游至水底，胸、腹部两侧及腹末都与体内气管系统直接相连的气门可能就起主要作用，其在水面仰泳时可利用气门直接与大气进行气体交换。从表 1 可以看出，3～6 龄幼虫体内的一、二、三级气管直径均比 1～2 龄幼虫大，可见 3～6 龄

幼虫体内的气管系统贮存的气体比 1～2 龄幼虫要多,因而能长期漂浮于水面。3～6 龄幼虫体内还有庞大的气囊系统,这可能是条背萤对生态环境的一种适应性,因为条背萤的主要猎物扁卷螺 *Planorbis corneus*、凸旋螺 *Gyraulus convexiusculus* 生活于水面的浮萍 *Lemna minor*、空心莲子草 *Alternanthera philoxeroides* 及岸边,条背萤幼虫为了捕食就利用气囊系统提供的浮力(Damant,1924;Miller,1966),使其能在水面长期漂浮进行捕食。另外,条背萤幼虫体内气囊提供的浮力可能使其随水流漂移,以此来扩散它的种群。这些都为条背萤幼虫种群能在水环境中长期得以生存提供极大的帮助。但条背萤 1～2 龄幼虫体内的气管是如何转变成 3～6 龄幼虫体内的气管及气囊,以及 1～2 龄和 3～6 龄幼虫是如何利用气管和气管鳃呼吸,有待进一步研究。

致谢 本单位硕士研究生王余勇、袁洪海在论文完成过程中给予帮助,一并致谢。

参考文献(References)

Damant GC, 1924. The adjustment of the buoyancy of the larva of *Corethra plumicornis*. *J. Physiol.*, 59:345－356.

Eisner T, Goetz MA, Hill DE, Smedley SR, Meinwald J, 1997. Firefly 'femmes fatales' acquire defensive steroids (lucibufagins) from their firefly prey. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94:9 723－9 728.

Fu XH, 2005. The Biology and Behavior of Two Species of Aquatic Fireflies in Mainland China. PhD Dissertation, Huazhong Agricultural Universitys Wuhan. 31－34. [付新华, 2005. 中国大陆两种水栖萤火虫生物学及行为学研究. 华中农业大学博士学位论文. 31－34]

Fu XH, Ohba N, Lei CL, 2004. Morphological and biological observations on aquatic firefly *Luciola substriata* (Gorham) (Coleoptera:Lampyridae) in China. *Acta Entomol. Sin.*, 47(3):372－378. [付新华, Ohba N, 雷朝亮, 2004. 条背萤的形态和生物学研究. 昆虫学报, 47(3):372－378]

Fu XH, Ohba N, Meyer-Rochow VB, Wang YY, Lei CL, 2006. Reflex-bleeding in the firefly *Pyrocoelia pectoralis* (Coleoptera:Lampyridae): Morphological basis and possible function. *The Coleopterists Bulletin*, 60(3):207－215.

Fu XH, Ohba N, Vencl FV, Lei CL, 2005. Structure, behavior, and the life cycle of an aquatic firefly, *Luciola substriata*, in China. *Canadian Entomologist*, 137(1):83－90.

Fu XH, Wang YY, Lei CL, 2005. Adaptive external morphology and swimming behavior in the aquatic firefly. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(4):419－424. [付新华, 王余勇, 雷朝亮, 2005. 条背萤幼虫水生适应性形态与游泳行为研究. 昆虫知识, 42(4):419－424]

Gonazález A, Hare JF, Eisner T, 2002. Chemical egg defense in *Photuris* firefly "femmes fatales". *Chemoecology*, 9:177－185.

Grouquist M, Schroeder FC, Ghiradella H, Hill D, McCoy EM, Meinwald J, Eisner T, 2006. Shunning the night to elude the hunter: diurnal fireflies and the "femmes fatales". *Chemoecology*, 16(1):39－43.

Mcdermott FA, 1966. Lampyridae. In: Steel WO ed. Coleopterorum Catologus Supplementa (9). 2nd ed. W. Junk's-Gravenhage, Netherland. 149.

Miller PL, 1966. The regulation of breathing in insect. *Adv. Insect Physiol.*, 3:279－354.

Ohba N, 1983. Studies on the communication systems of Japanese fireflies. *Science Reports of the Yokosuka City Museum*, 3:1－62.

Ohba N, 2004. Flash communication systems of Japanese fireflies. *Integrative and Comparative Biology*, 44:225－233.

Okada YK, 1928. Two Japanese aquatic glowworms. *Trans. R. Ent. Soc. Lond.*, 101－108.

Raj JS, 1952. An aquatic glow-worm from Alleppey. *Curr. Sci.*, 21:222.

Robert AL, 1998. Bioluminescence Methods and Protocols. Totowa, New Jersey: Humana Press. 1－25.

Vencl FV, 2004. Allometry and proximate mechanisms of sexual selection in the *Photuris* fireflies, and some other beetles. *Integrative and Comparative Biology*, 44:242－249.

Vencl FV, Carlson AD, 1998. Proximate mechanisms of sexual selection in the firefly *Photinus pyralis* (Coleoptera:Lampyridae). *Journal of Insect Behavior*, 11(2):191－207.

(责任编辑 袁德成)